Inhaltstoffe der Wurzeln von *Margaretta rosea Oliv.*

Verkürzte Fassung der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie,
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

JOACHIM DIETER SIERP
aus München

1967

Basel
Buchdruckerei Birkhäuser AG
1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546022_0065

Inhaltstoffe der Wurzeln von *Margaretta rosea Oliv.*

Verkürzte Fassung der

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie,
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

JOACHIM DIETER SIERP
aus München

Basel
Buchdruckerei Birkhäuser AG
1970

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät auf Antrag der Herren Professoren Dr. T. REICHSTEIN und Dr. S. FALLAB.

Basel, den 6. Juni 1967

Prof. Dr. H. HUBER
Dekan

Herrn JOACHIM DIETER SIERP wurde von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel am 6. Juni 1967 erlaubt, diese verkürzte Fassung seiner am 6. Juni 1967 genehmigten Inauguraldissertation drucken zu lassen. Die vollinhaltliche Arbeit mit dem Titel:

«*Glykoside aus den Wurzeln von* Margaretta rosea Oliv.»

kann eingesehen oder entliehen werden:

1. im Organisch-chemischen Institut der Universität Basel;
2. in der Universitätsbibliothek Basel;
3. in der Schweizerischen Landesbibliothek in Bern.

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Separatabdruck aus Helvetica Chimica Acta, Volumen 53,
Fasciculus primus, 1970

Inhaltstoffe der Wurzeln von *Margaretta rosea Oliv.*

Glykoside und Aglykone, 323. Mitteilung[2])

Summary. The roots of *Margaretta rosea Oliv.*, subsp. *rosea Bullock* contain cardenolides mixed with *Kedde* negative ester glycosides. 6 Cardenolides were identified by paper chromatography (PC) and thin layer chromatography (TLC). Three of them were free aglycones (uzarigenin (**1**), corotoxigenin (**3**) and coroglaucigenin (**5**), the other three their corresponding 6-deoxy-β-D-allo-pyranosides (ascleposide (**2**), gofruside (**4**) and frugoside (**6**). Only two cardenolides (**1** and **5**) were isolated in crystalline form. The behaviour of thd more polar portion of the glycoside mixture shows that D-gluco derivatives of at least 5 of the 6 cardenolides mentioned were also present.

The *Kedde* negative glycosides were a complicated mixture containing mainly 2,6-dideoxy-sugars linked to esterified polyhydroxy-pregnanes. After mild acid hydrolysis cymarose, oleandrose

[2]) 322. Mitt.: *Elber et al.* [1].

and digitoxose could be identified by PC and TLC. From the crude aglycone portion only one cristalline genin (M) could be isolated. This was still a mixture, but its main component according to the mass spectrum was a monobenzoyl derivative $C_{28}H_{38}O_7$. – A small amount of cristalline O-acetyl-β-amyrin was isolated from the least polar components.

Margaretta rosea Oliv. (*Asclepiadaceae*) ist eine polymorphe, besonders im nördlichen Teil des tropischen Afrikas (Nigeria, Kamerun, Sudan, Uganda, Kenya, Tanganjika, Njassaland, Mozambique, Rhodesia, Katanga) heimische Staude. Nach dem Blütenbau unterscheidet *Bullock* [2] zwei Unterarten, *subsp. rosea* und *subsp. bidens*, die auch geographisch teilweise getrennt sind. Eine orientierende chemische Prüfung einer Probe aus Südrhodesien, wo nach *Bullock* die *subsp. rosea* wachsen soll, erfolgte durch *Absich et al.* [3]. Danach waren die Wurzeln frei von Alkaloiden aber sehr reich an Glykosiden, die viel 2-Desoxyzucker sowie Cardenolide enthielten. Über weitere chemische Untersuchungen ist uns nichts bekannt. Wir beschreiben hier eineorientierende präparative Analyse der Wurzeln.

Beschaffung des Ausgangsmaterials. – Zur Verfügung standen: a) 1700 g getrocknete Wurzeln; b) 600 g getrocknete Blätter und Zweige.

Das Material wurde von Herrn Dr. *Pole-Evans* beschafft. Die Pflanze ist schwer zu sammeln, da sie verstreut, nur einzeln oder in kleinen Beständen wächst. Das genannte Material wurde innerhalb von 6 Jahren an über 20 Stellen zuerst südlich von Umtali (Südrhodesien) gesammelt und gehört nach seinen Angaben durchweg zur *subsp. rosea*[3]). Es erreichte uns am 14. 3. 1962 in ausgezeichnetem Zustand. Fig. 1 zeigt ein Herbarmuster. Bisher wurde nur ein Teil der Probe a) untersucht.

Extraktion und Vortrennung der Extrakte. – 524 g Wurzeln wurden gepulvert und nach früher beschriebener Methode [4] (nach Reinigung mit $Pb(OH)_2$) extrahiert. Über die Ausbeuten orientiert Tabelle 1. Dort sind auch einige Farbreaktionen sowie die Ergebnisse der Prüfung im Papierchromatogramm (PC.) und Dünnschichtchromatogramm (DC.) wiedergegeben, die teilweise erst nach präparativer Vortrennung ein brauchbares Ergebnis lieferten.

Präparative Trennungen. – Die weitere Untersuchung war durch den Umstand erschwert, dass alle vier Extrakte neben Cardenoliden relativ viel andere Glykoside enthielten, die mit *Kedde*-Reagens keine Färbung gaben. Eine Aufklärung gelang bisher nur bei einigen Vertretern der erstgenannten Gruppe. Ferner konnzte gezeigt werden, dass es sich bei den *Kedde*-negativen Glykosiden vorwiegend um Esterglykoside handelt, wie sie auch in zahlreichen anderen Asclepiadaceen gefunden wurden [8]. – Im folgenden wird die Untersuchung der vier Extrakte einzeln besprochen.

Untersuchung des Äther-Extraktes. – Dieses Material zeigte im DC. ca. 11 Flekke, von denen sich aber nur drei (A, B, C) mit *Kedde*-Reagens anfärben liessen. Es wurde zunächst an SiO_2 chromatographiert. Aus den leichter eluierbaren Anteilen wurden etwas Kristalle (X) isoliert, die als 3-O-Acetyl-β-amyrin [9] identifiziert werden konnten. Von den Cardenoliden konnte A in Kristallen isoliert und mit Uzarigenin

[3]) Herr Dr. *I. B. Pole-Evans*, zuletzt wohnhaft in Umtali, Süd-Rhodesien, hat uns im Laufe der letzten 18 Jahre eine sehr grosse Zahl von teilweise sehr seltenen Pflanzen geschickt. Er war einer der besten Kenner der südafrikanischen Flora und ist leider nach längerer Krankheit im Alter von 89 Jahren am 16. Oktober 1968 im Spital von Umtali verstorben. Wir werden ihm ein ehrendes Andenken bewahren.

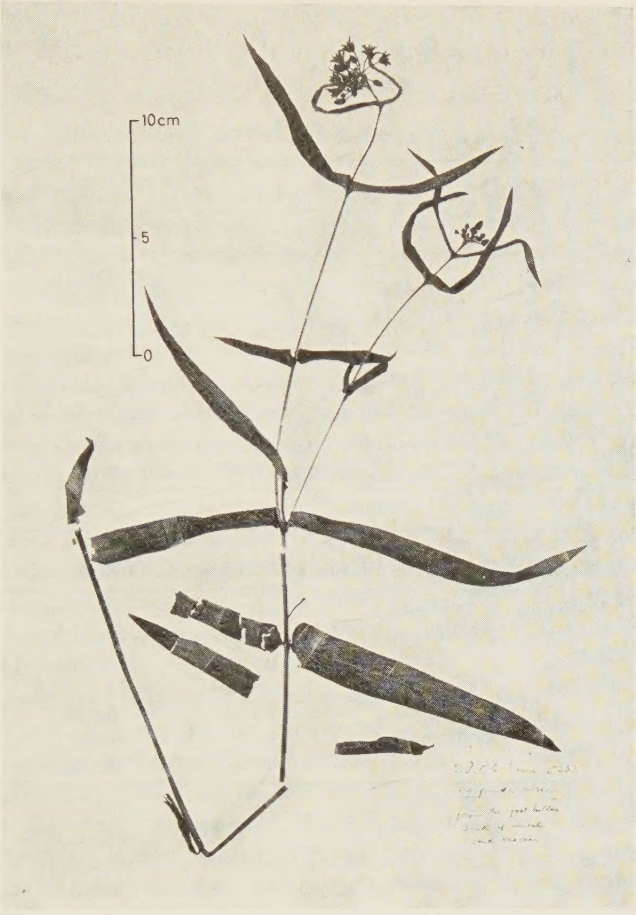


Fig. 1. *Margaretta rosea Oliv., subspec. rosea Bullock*
Herbarmuster mit Blüten. *leg. I. B. Pole-Evans* Nr. 5333 from the foot hills South of Umtali (Südrhodesien, kein Datum, erhalten 14. 3. 1962)

(**1**) identifiziert werden. Die nur in kleinen Mengen vorhandenen Stoffe B und C wurden papierchromatographisch als Corotoxigenin (**3**) und Ascleposid (**2**) identifiziert. Ferner wurden bei dieser Chromatographie noch kleine Mengen von zwei weiteren Cardenoliden B 1 und B 2 sichtbar, die als Autoxydationsprodukte des Corotoxigenins erkannt werden konnten.

Um einen Einblick in den Bau der *Kedde*-negativen Anteile zu erhalten, wurden die Xanthydrol-positiven Anteile, nach weitmöglichster Abtrennung des Uzarigenins, nach steigender Polarität in 3 Gruppen (Gr. 1, Gr. 2 und Gr. 3) zusammengefasst und nach einem Vorversuch jede Gruppe einer milden sauren Hydrolyse[4]) unterworfen. Über das Ergebnis orientiert Tabelle 2. Wie daraus ersichtlich, wurde jeweils ein beträchtlicher Teil (bei der Gruppe 2 und 3 ca. 50%) des Gewichtes an Zuckern abgespalten. Bei der Prüfung eines solchen Zuckergemisches (aus Vorversuch entspr. Fr

[4]) Ausführung nach *Rangaswami & Reichstein* [10].

20 von Gruppe 2) im PC. und durch Elektrophorese konnten Cymarose, Oleandrose und Digitoxose eindeutig nachgewiesen werden. Abwesend waren die Isomeren dieser Hexosen, ebenso Pachybiose [11], vermutlich auch ähnliche Disaccharide[14]). Von den

Tabelle 1. *Ausbeuten an rohen Extrakten aus 524 g Wurzelpulver von* Margaretta rosea[10])

Art des Extraktes	Ausbeuten in g	in %	*Kedde*-Reaktion [5][5]) Flecke im PC.[6])	Färbung mit $SbCl_3$ [6][7]) Flecke im DC.[8])	Xanthydrol-Reaktion [7][9])
Ae-	4,94	0,94	+ A, B, C	schwarzgrau nicht aufgelöst	+
Chf-	2,13	0,41	+ + (C), D, E	schwarzgrau F, T u. andere	+ +
Chf-Alk-(2:1)-	1,99	0,38	+ + G u. weitere	schwarzgrau nicht geprüft	+ +
Chf-Alk-(3:2)-	0,89	0,17	+ + hochpolare Stoffe	schwarzgrau nicht geprüft	+
Total	9,95	1,90			

Tabelle 2. *Milde saure Hydrolyse von Gruppen des Ätherextraktes*

	Nachweis PC. bzw. DC.	Vorversuch Fr. 20 Menge in mg	in %	1. Hauptversuch Gruppe 1 Fr. 15–18 Menge in mg	in % Flecke	2. Hauptversuch Gruppe 2 Fr. 19–23 Menge in mg	in % Flecke	3. Hauptversuch Gruppe 3 Fr. 24–34 Menge in mg	in % Flecke
Eingesetzte Menge		413		545		935		1121	
Ae-Chf-(4:1)-Auszug	DC.	210 = 50,7% K, (L), M, N, (A), O		453 = 83% mehrere[11])		421 = 45% K, (L), M, N, O		444 = 39,6% O, P	
Chf-Auszug	DC.	–[12])		–[12])		–[12])		95 = 8,5% O, P	
Zuckersirup roh	PC.	195 = 47,2% vgl. Text		–[13])		–[13])		–[13])	
Spaltstücke total		405 = 97,9%							

[5]) Dieses Reagens gibt mit allen Butenoliden eine violette Färbung. Empfindlichkeit im PC. ca. 0,005 mg.

[6]) Bei Nachweis mit *Kedde*-Reagens, wobei fast nur die Cardenolide erfasst werden.

[7]) Unspezifisches Reagens, gibt mit allen 2-Desoxyzuckern und ihren Glykosiden eine braungraue Färbung. Eine gleiche Färbung gibt Sarcostin, andere stark hydroxylierte Steroide geben meistens auch Färbungen.

[8]) Bei Nachweis durch Sprühen mit 20-proz. *p*-Toluolsulfonsäure in Alkohol mit anschliessendem Erhitzen auf 120°, wobei praktisch alle Stoffe sichtbar werden.

[9]) Dieses Reagens gibt mit allen 2-Desoxyzuckern und ihren Derivaten eine Rotfärbung.

[10]) Abkürzungen vgl. Einleitung zum Experimentellen Teil.

[11]) Mehrere Flecke weniger polar als K; dieses Material wurde nicht weiter untersucht.

[12]) In diesem Versuch wurde das Hydrolysat nicht mit reinem Chloroform ausgeschüttelt.

[13]) Die Zucker wurden in diesem Versuch nicht isoliert.

[14]) Bisher wurden nur die Zucker aus der besonders grossen Fr 20 untersucht. Es ist durchaus möglich, dass die höher polaren Glykosidfraktionen (Gr. 3) noch andere Zucker enthalten haben.

rohen Geninen wurden bisher nur diejenigen aus Gruppe 2 weiter untersucht. Im DC. (Fig. 2 und 3) gaben sie 5 Flecke (K, (L), M, N und O). Im PC. (Fig. 8) liess sich der Fleck M in zwei Flecke M1 und M2 auflösen. Durch Chromatographie an viel feinem SiO_2 nach *Duncan* [12] konnte eine teilweise Trennung erreicht werden. Ausser etwas Uzarigenin (A) wurde aber nur Substanz M (Gemisch von M1 und M2) in Kristallen erhalten, die zwei weiteren Hauptkomponenten K und N in amorpher aber chromatographisch einheitlicher Form. Sie wurden bisher nur durch ihre Laufstrecke im DC. und PC. charakterisiert (vgl. Fig. 2, 3 und 8). Bisher gelang es bei keiner dieser drei Substanzen (K, M und N), sie mit Stoffen bekannter Strukturen zu identifizieren. Zum Vergleich dienten insbesondere eine Reihe von Pregnanderivaten, wie sie aus anderen Asclepiadaceen erhalten worden waren. Wie aus Fig. 2 und 8 ersichtlich, sind in keinem Fall identische Laufstrecken feststellbar, und dort wo diese ähnlich sind, bestehen deutliche Unterschiede bei der Färbung der Flecke mit $SbCl_3$ (vgl. Tab. 4). Wir vermuten, dass es sich bei diesen drei Geninen um Ester handelt, denn bei alkalischer Verseifung entstanden Säuren und Neutralstoffe. Die Säuren waren ein Gemisch, das neben den aliphatischen Vertretern (Geruch nach Isovaleriansäure) auf Grund des UV.-Spektrums kleine Mengen von Benzoesäure enthielt; es wurde nicht weiter getrennt. Die Desacylgenine gaben sowohl im DC. wie im PC. wieder mehrere Flecke, die sich von den ursprünglichen Geninen (K, L, M, N, O, P)[15]) unterscheiden und die ebenfalls bisher mit keinem der unten genannten Pregnanderivate identisch waren (vgl. Fig. 2, 4 und 9). Einige zusätzliche Anhaltspunkte ergaben sich bei der Prüfung des krist. Materials M.

Untersuchung der Substanz M (Gemisch von M **1** *und M* **2**). Eine Trennung der Komponenten M1 und M2 war bei der vorliegenden kleinen Menge nicht möglich, daher musste das Gemisch untersucht werden. Nach dem UV.-Spektrum lag ein Benzoylderivat vor. Die Extinktion würde sehr gut auf ein Mono-O-benzoylderivat der Formel $C_{28}H_{38}O_7$ (M = 486) passen (vgl. Massenspektrum). Auch im IR.-Spektrum (vgl. Fig. 11) sind entsprechende Banden deutlich sichtbar. Das Massenspektrum (Fig. 12) wäre ebenfalls mit der Annahme verträglich, dass die Hauptkomponente von M die angegebene Formel besitzt. Falls dies zutrifft, wäre im Spektrum die Spitze des Molekel-Ions kaum sichtbar, die äusserst starke Spitze bei m/e = 364 würde dann einem Bruchstück der Formel $C_{21}H_{32}O_5$ entsprechen, das durch Abspaltung von einem Mol Benzoesäure entstanden ist. Dieses Resultat spricht sehr stark dafür, dass die Hauptkomponente von Substanz M ein benzoyliertes Pregnanderivat $C_{21}H_{34}O_6$ darstellt. Mögliche Struktur vgl. Diskussion des Massenspektrums bei Fig. 12.

Desacylgenine. Nach Kochen von Substanz M mit KOH in Methanol wurden im DC. 3 Flecke erhalten, davon war einer nur sehr schwach (vgl. Fig. 5); alle drei zeigten kürzere Laufstrecken als M, was ebenfalls dafür spricht, dass Substanz M einen Ester darstellt[16]). Ferner gaben sowohl die Subst. K, wie ein Gemisch der Stoffe K und N, nach alkalischer Hydrolyse ein Desacylgenin-Gemisch, das sowohl im PC. wie im DC. dieselben 3 Flecke (sowie einen zusätzlichen sehr schwachen vierten) lieferte

[15]) Genin P war nur in den Geninen aus Gruppe 3 nachweisbar.

[16]) Viele Asclepadaceen enthalten 14β-Hydroxy-pregnan-20-on-Derivate, die bei Behandlung mit Alkali ein Gleichgewichtsgemisch der zwei an C-17 isomeren Stoffe liefern [13]. Ob die zwei Hauptflecke, die aus M nach alkalischer Verseifung entstehen, zwei solchen Isomeren entsprechen, ist aber fraglich.

(vgl. Fig. 5). Dies zeigte, dass diese Stoffe alle dasselbe Genin oder dieselben zwei Hauptgenine enthalten wie M und sich nur durch die Estergruppen voneinander, sowie von M, unterscheiden.

Untersuchung des Chloroform-Extraktes. – Dieses Material zeigte im DC. (Fig. 7) vier Flecke (T, D, F und E), von denen aber nur D und E mit *Kedde*-Reagens angefärbt wurden. Wie sich später zeigte, war T ein Gemisch (es zeigte stark positive Xanthydrolreaktion und dürfte vorwiegend Esterglykoside enthalten haben). Zur präparativen Trennung wurde das Material (2,13 g) in 3 Portionen an SiO_2 nach *Duncan* [12] chromatographiert, wobei sich D in Kristallen isolieren und mit Coroglaucigenin (**5**) identifizieren liess. Die an F und E angereicherten Fraktionen wurden durch Chromatographie an Al_2O_3 weiter getrennt, wobei sich diese zwei Stoffe in amorpher aber papierchromatographisch nahezu reiner Form erhalten liessen. E wurde nach DC. und PC. in zwei Systemen mit Gofrusid (**4**) identifiziert (Laufstrecken und Färbungen mit *p*-Toluolsulfonsäure bzw. $SbCl_3$ waren jeweils gleich). Das Präparat zersetzte sich beim Stehen; es ist bekannt, dass Gofrusid sehr autoxydabel ist. Auch das Konzentrat von F zersetzte sich, bevor es weiter untersucht werden konnte.

Untersuchung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extraktes. – In diesem Material wurden nur die Cardenolide untersucht. Im PC. zeigte es bei Entwicklung mit *Kedde*-Reagens nur drei starke Flecke (G, Q und R, vgl. Fig. 10, erste Bahn). Von diesen liess sich G durch direkten Vergleich im PC. mit Frugosid (**6**) identifizieren. Nach Einwirkung einer geeigneten Glucosidase («Cellulase»)[17]) verschwand der starke Q-Fleck

Tabelle 3. *Die aus 524 g Wurzeln von* Margaretta rosea *in reiner oder annähernd reiner Form isolierten Stoffe*

Stoffgruppe	Stoff und event. Identifizierung Bezeichnung	Smp. $[\alpha]_D$	Bruttoformel	Isolierte Menge in mg (in Klammer = amorph)	Schätzung der in 524 g Wurzeln wirklich vorhandenen Menge[18]) in mg	in %
Cardenolide (*Kedde*-positiv)	A = Uzarigenin	243–253°	$C_{23}H_{34}O_4$	47	200	0,04
	D = Coroglaucigenin	210–215/241–246° [+21,6 Me]	$C_{23}H_{34}O_5$	127	350	0,07
	E = Gofrusid	nicht krist.	$C_{29}H_{44}O_9$	(46)	100	0,02
Kedde-negative Genine	Subst. K	–	–	(67)	100	0,02
	Subst. M	129–131° [+11,6 An][19])	$C_{28}H_{38}O_7$ (?)	16	100	0,02
	Subst. N	–	–	40	60	0,01
	X = 3-O-Acetyl-β-amyrin	219–226°	$C_{32}H_{52}O_2$ (?)	5	100 (?)	0,02

[17]) Ein β-Glucosidase-Präparat aus einer *Aspergillus spec.*, bezogen von der *Schweiz. Ferment AG.*, Basel.

[18]) Schätzungen auf Grund der Ausbeuten und der Stärke der Flecke im PC. und DC., soll nur ungefähre Grössenordnung angeben.

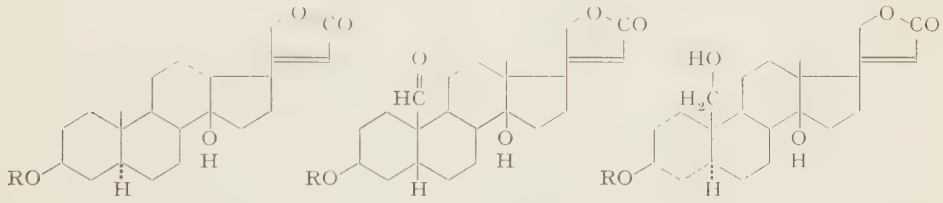
[19]) Wir danken auch hier Frl. Dr. *R. Reubke* und Herrn *P. Bader*, Analyt. Laboratorium der *CIBA Aktiengesellschaft*, Basel, bestens für die Ausführung dieser Messung.

(Fig. 10, dritte Bahn), dafür zeigten sich zwei neue sehr starke Flecke (Fig. 10, zweite Bahn), von denen einer der Subst. D (Coroglaucigenin) entsprach, während der schwächst polare sich in anderen Systemen (vgl. Exp. Teil) in drei Flecke (A, C und E2) auflösen liess. Diese entsprachen den Stoffen Uzarigenin = A (**1**) und Ascleposid = C (**2**), während E2 ein Autoxydationsprodukt von Gofrusid = E darstellt, da es auch aus diesem beim Stehen in Lösung entsteht. Der Chf-Alk-(2:1)-Extrakt dürfte daher neben Frugosid (G) und dem nicht identifizierten hochpolaren Stoff R in reichlicher Menge noch die D-Glucoside des Uzarigenins, Ascleposids und Coroglaucigenins enthalten haben. Möglicherweise war auch noch eine kleine Menge eines D-Glucogofrusids anwesend.

Untersuchung des Chloroform-Alkohol-(3:2)-Extraktes. Dieses stark polare Material gab im PC. im System von Fig. 10 (vierte Bahn) nur einen fast stationären Fleck. Nach Fermentierung mit «Cellulase»[17]) verschwand dieser praktisch vollständig[20]) (Fig. 10, sechste und siebente Bahn). Dafür entstanden zwei neue starke Flecke, die den Stoffen D (Coroglaucigenin) und G (Frugosid) entsprachen. Der genannte Extrakt dürfte daher an Cardenoliden vor allem die D-Glucoside dieser zwei Stoffe enthalten haben[21]).

Ausbeuten. – Über die Ausbeuten der in reiner oder nahezu reiner Form isolierten Stoffe orientiert Tab. 3, dort ist auch eine rohe Schätzung des wirklichen Gehalts angegeben.

Diskussion der Resultate. – Auf Grund der vorliegenden Untersuchung enthalten die Wurzeln von *Margaretta rosea* neben freien Cardenoliden reichliche Mengen von Glykosiden. Diese leiten sich teilweise von Cardenoliden ab, teilweise liegen Esterglykoside vor. Identifiziert wurden 6 bekannte Cardenolide, nämlich 3 Genine (Uzarigenin (**1**), Corotoxigenin (**3**) und Coroglaucigenin (**5**)) sowie ihre drei 6-Desoxy-D-allo-



1 (R = H) = Uzarigenin F. 230–246° [+ 14 Alk] [10]

2 (R = 6-Desoxy-allopyranosyl-Rest) = Ascleposid F. 248–251° [– 27,2 Me] [15]

3 (R = H) = Corotoxigenin F. 221° [+ 43,0 Me] [16] [17]

4 (R = 6-Desoxy-allopyranosyl-Rest) = Gofrusid F. 250–257° [– 5,1 Me] [18] [17]

5 (R = H) = Coroglaucigenin F. 249° [+ 23 Me] [16] [17]

6 (R = 6-Desoxy-allopyranosyl-Rest) = Frugosid F. 160–238° [– 17 Me] [19] [17]

Die Zahlen in langen eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in den vermerkten Lösungsmitteln[10]) an.

7 (β-D-Glucopyranosyl-6-desoxy-D-allopyranosyl-Rest) = Glucofrugosid F. 187–190°/265–285° [– 7,2 Me] [14]

[20]) Das am Start verbleibende Material färbte sich mit *Kedde*-Reagens nur noch braun.

[21]) Kürzlich isolierte *J. Pehičic* [14] aus *Asclepias tuterosa L.* ein β-D-Gluco-frugosid (**7**).

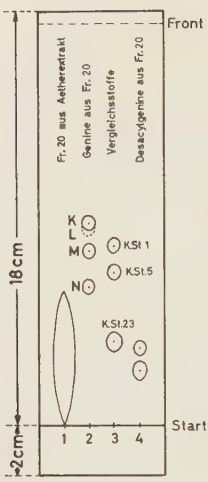


Fig. 2.
Eg-Cy-(9:1)
50 Min.

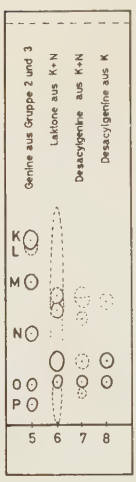


Fig. 3.
Eg-Cy-(3:2)
2mal Front
60 Min.

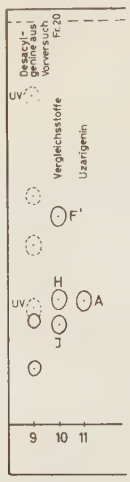


Fig. 4.
Chf-iPr-(9:1)
70 Min.

Fig. 5.
Eg-iPr-(98:2)
50 Min.

Fig. 6.
Mek-Cy-(3:2)
75 Min.

Fig. 7.
Me-Eg-Cy-
(1:2:1)
45 Min.

Die Fig. 2–7 sind *Beispiele für Dünnschichtchromatogramme*[10])[8]), *schematisiert, aber massgetreu.* Ausführung aufsteigend auf Linienglas [20]. Bedeutung der Buchstaben vgl bei Fig. 8–10.

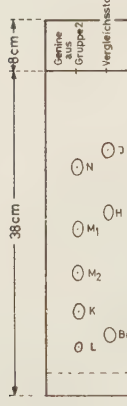


Fig. 8.
Be/Fmd[22])[23])
2 Std.

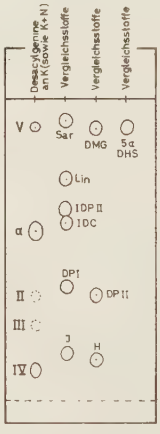


Fig. 9.
Chf/Fmd[22])[23])
2 Std.

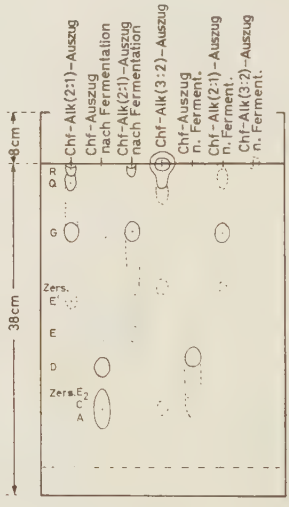


Fig. 10.
To-Mek-(1:4)/W[6])[5])
2 Std. 20 Min.

Fig. 8–10 sind *Beispiele für Papierchromatogramme*[10]), *schematisiert, aber massgetreu.* Ausführung absteigend nach früheren Angaben [21]. Bei Fig. 8 und 9 wurden die Papiere zur Imprägnierung mit Formamid kurz durch ein An-Fmd-(4:1)-Gemisch gezogen. Bei Fig. 10 wurde das Papier,

[22]) Fliessmittel war nur zu 80% mit Formamid gesättigt.
[23]) Nachweis mit $SbCl_3$[7]).

Whatman Nr. 1, mit genau gewogener Menge Wasser beladen (30% des Trockengewichtes). Fig. 10 gibt das Ergebnis nach fermentativem Abbau mit «Cellulase»[17]).

KST-1 = Anhydrohirundigenin, $C_{21}H_{28}O_4$, aus *Vincetoxicum hirundinaria Med.* [22]
KST-5 = Hirundigenin, $C_{21}H_{30}O_5$, aus *Vincetoxicum hirundinaria Med.* [22]
KST-23 = Vincetogenin, $C_{21}H_{28}O_6$, aus *Vincetoxicum hirundinaria Med.* [22]
F′ = 3β-Hydroxy-Δ^{14}-5α-pregnen-20-on [23]
H = 3β,14β-Dihydroxy-5α,17α-pregnan-20-on [24]
J = Subst. J von *R. Elber*, vermutlich 3β,8β,14β-Trihydroxy-5α,17α-pregnan-20-on [23]
BRa = Benzoylramanon = 3β,14β-Dihydroxy-12β-benzoyloxy-Δ^5-pregnen-20-on [25][24])
Sar = Sarcostin = vermutlich 3β,8β,12β,14β,17β,20*S*-Hexahydroxy-Δ^5-pregnen [26] [27]
5αDHS = 5α-Dihydrosarcostin = vermutlich 3β,8β,12β,14β,17β,20*S*-Hexahydroxy-5α-pregnan [26] [27]
Lin = Lineolon = vermutlich 3β,8β,12β,14β-Tetrahydroxy-Δ^5-17α-pregnen-20-on [28] [27]
IDPII = Ramanon (= Isodigipurpurogenin II) = 3β,12β,14β-Trihydroxy-Δ^5-17α-pregnen-20-on [29][25])
IDC = Isodesacylcynanchogenin = vermutlich 3β,8β,12β,14β-Tetrahydroxy-Δ^5-pregnen-20-on [30] [31][24])
DPI = Digipurpurogenin I = 3β,12α,14β-Trihydroxy-Δ^5-pregnen-20-on [29][25])
DMG = Desacetylmetaplexigenin = vermutlich 3β,8β,12β,14β,17β-Pentahydroxy-Δ^5-pregnen-20-on [25][24])
DPII = Digipurpurogenin II (= Isoramanon) = 3β,12β,14β-Trihydroxy-Δ^5-pregnen-20-on [29][25])

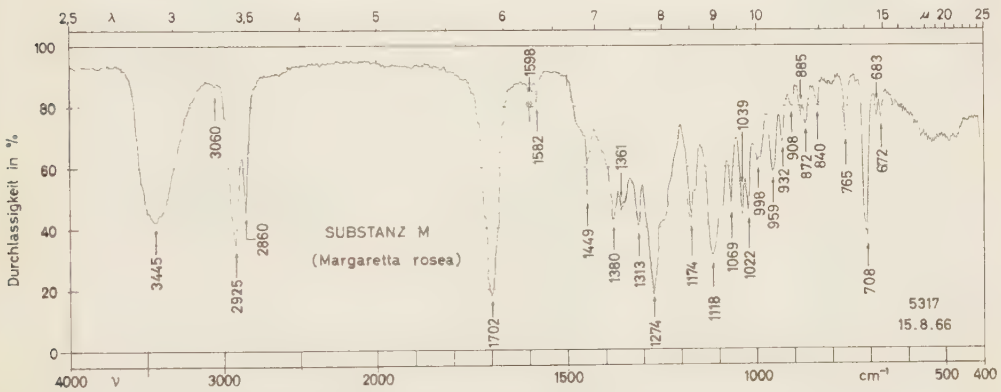


Fig. 11. *IR.-Absorptionsspektrum von Substanz M (Präp. DS-6), Smp. 129–131° (Gemisch der Komponenten M1 und M2), 1,06 mg fest in ca. 300 mg KBr*[26])

Versuchsweise Zuordnung (cm^{-1}): 3060 = CH aromatisch; 1702 >C=O Ester aromatisch; 1598 und 1582 C=C aromatisch; 1274 >C=O Ester aromatisch; 708 monosubstituierter Benzolring.

Diskussion des Massenspektrums von Substanz M, Fig. 12 (S. 37)

Versuchsweise Zuordnung: 486 = M; 468 = $M-H_2O$; 453 = $M-H_2O-CH_3$; 440 = $M-H_2O-CO$ (od. $M-HCOOH$?); 382 event. Desacylgenin; 364 = $M-C_6H_5COOH$; 349 = $364-CH_3$ (m^* gef.: 335; ber.: 334,6); 346 = $364-H_2O$ (m^* gef.: 329; ber.: 328,9); 331 = $349-H_2O$ (m^* gef.: 314; ber.: 314,2); 328 = $346-H_2O$; 322 = $364-C_2H_2O$; 318 = $346-CO$ (od. $364-HCOOH$); 313 = $331-H_2O$ (m^* gef.: 296; ber.: 296); 306 = $349-43$ (CH_3CO); 303 = $346-43$ (CH_3CO); 285 = $328-43$ (CH_3CO) od. $303-H_2O$; 282 = $349-C_4H_3O$ (?); 279 = $346-C_4H_3O$ (?); 265 =

[24]) Wir danken Herrn Prof. *H. Mitsuhashi*, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University, Sapporo (Japan) bestens für die Überlassung von Vergleichssubstanzen.
[25]) Wir danken Herrn Prof. *R. Tschesche*, Bonn, auch hier bestens für die Überlassung dieser Probe.
[26]) Aufgenommen von Herrn *K. Aegerter* auf einem *Perkin-Elmer*-IR.-Gitterspektrophotometer-Modell 125.

Tabelle 4. *Färbungen nach Entwickeln mit $SbCl_3$ [6] und* p-*Toluolsulfonsäure*

Substanz	im Dünnschichtchromatogramm mit *p*-Toluolsulfonsäure	im Papierchromatogramm mit $SbCl_3$
Substanz K	hellrot-ziegelrot-braunrot	hellziegelrot-orange
Substanz L	gelb	hellziegelrot-orange
Substanz M (M1 + M2)	gelb	hellziegelrot-orangegelb
Substanz N	hellrot-ziegelrot	hellziegelrot-orange
Substanz O	hellrot	–
Substanz P	grauviolett	–
Substanz α	braun-oliv oder orange-gelbbraun-violettrot	orange-rötlich-gelb
Substanz H (RKE 3) [24] [23]	rötlich-braun-beige	grau-violett
Substanz J (RKE 11) [23]	blaugrün-braungrün	violett-grau
Substanz F′ (RKE 9) [23]	hellbraun-beige	–
Benzoylramanon [25]	–	violett*rot*-violett
Sarcostin [26] [27]	–	blaugrau-violett
5α-Dihydrosarcostin [26] [27]	–	braun
Lineolon [28] [27]	–	blauviolett-graublau
Desacetylmetaplexigenin [25]	–	lauchgrün-blaugrün
Isodesacylcynanchogenin [30] [31]	–	hellgrau
Digipurpurogenin I [29]		purpurrot (rötl.-braun)-violettbraun
Digipurpurogenin II [29]	–	gräulichbraun-rötlich-violett
Isodigipurpurogenin II [29]	–	braunviolett-rötlich-violett
Anhydrohirundigenin [22]	olivgrün-violettgrau	orangerot
Hirundigenin [22]	violett-schwarzgrau	orange-orangerot
Vincetogenin [22]	rotviolett	rotviolett
A = Uzarigenin [10]	lauchgrün	
B = Corotoxigenin [16]	gelb	–
C = Ascleposid [15]	lauchgrün	–
D = Coroglaucigenin [16] [17]	gelb	gelb
Substanz F	blauviolett	graublau
E = Gofrusid [18] [17]	ockerbraun	braungelb-ocker
G = Frugosid [19] [17]	–	hellgrün

282 – HO; 261 = 279 – H_2O; 246 = 364 – CH_3 – 2 H_2O – C_4H_3O (?); 236 = 364 – H_2O – CH_3CO – C_4H_3O (?); 208 = 236 – C_2H_4 oder **13**; 195 = **9**; 193 = 208 – CH_3; 182 = **14** + **17**; 169 = **10** – C_6H_5COOH; 167 = ?; 156 = **15**; 138 = **11** + **16**; 120 = **12** – H_2O sowie **16** – H_2O; 105 = 120 – CH_3 sowie C_6H_5CO

Das Massenspektrum wäre mit Formel **8** verträglich, event. im Gemisch mit isomerem Stoff. Auffallend ist, dass die Spitze bei *m/e* 138 zur Hauptsache dem Ion $C_8H_{10}O_2$ entspricht, während das Ion $C_9H_{14}O$ etwa 100mal schwächer ist. Bei der Spitze mit *m/e* 120 ist es umgekehrt, hier ist das Ion C_9H_{12} etwa 10mal stärker als C_8H_8O. Eine Retro-*Diels-Alder*-Spaltung (zu **11** und **12**) ist also doch anzunehmen, sie ist aber offenbar schwächer als beim Lineolon und Desacylcynanchogenin (= 17-*iso*-Lineolon) (vgl. Fig. 18 und 19 bei *Kapur et al.* [31], und die immer beobachtet wird, wenn Δ^5-Steroide eine HO-Gruppe an C-8 tragen. Die Spaltung entspr. a scheint besonders bevorzugt zu sein, wenn auch in 11-Stellung noch eine HO-Gruppe anwesend ist. Massenspektren verwandter Stoffe vgl. Dihydrosarcostin und Utendin (Fig. 6–9 bei *v. Ardenne et al.* [32]; Kondurangogenin usw. (*Tschesche et al.* [33]); Drevogenin D, P und 17-*iso*-P (Fig. 1–3 bei *Sauer et al.* [34]); 12-O-Benzoyl-20-O-acetyl-sarcostin (Fig. 1 bei *Sawlewicz et al.* [35]); Tayloron und 12-O-Benzoyl-tay-

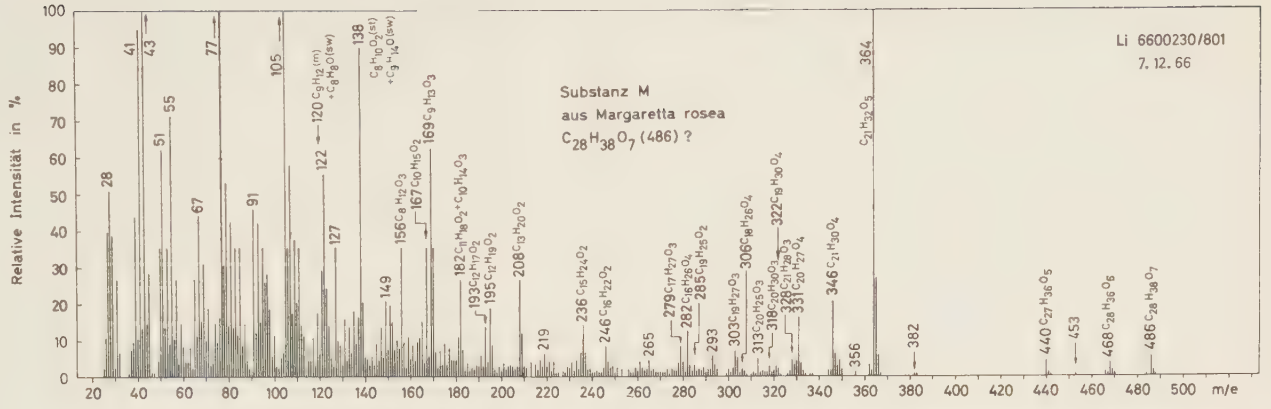


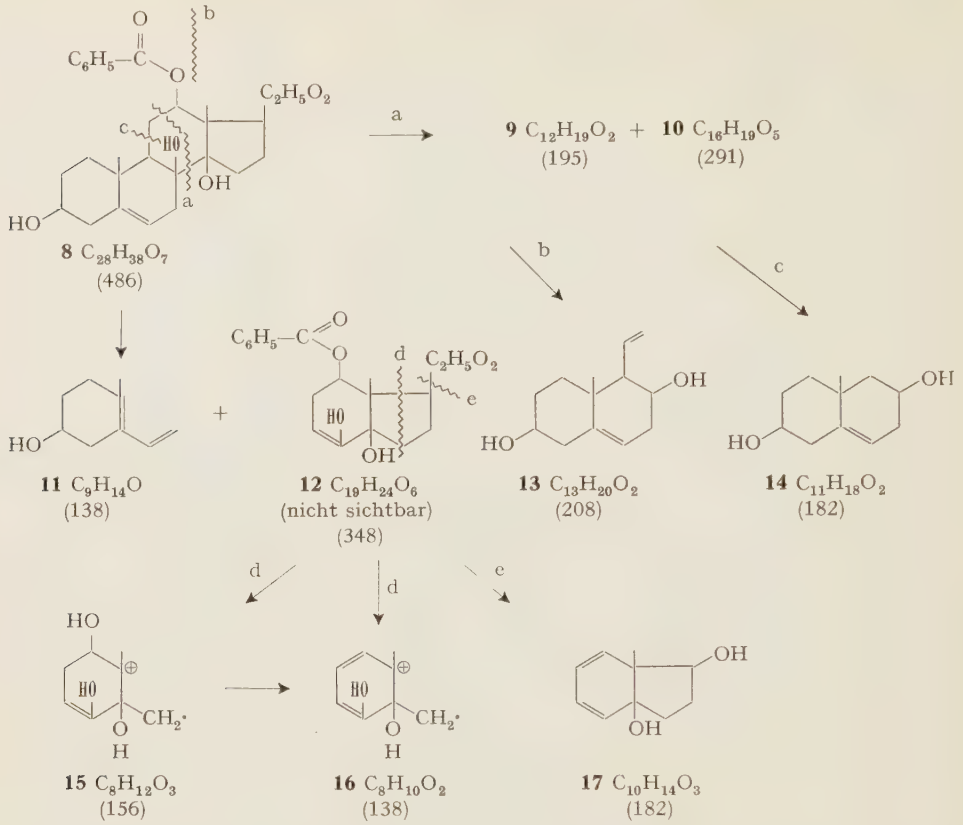
Fig. 12. *Massenspektrum von Substanz M (Präp. DS-6), Smp. 129–131 (Gemisch der Komponenten M1 und M2)* [27] [28]

Die angegebenen Bruttoformeln sind durch genaue Vermessung einer Photoplatte ermittelt.

[27] Aufgenommen von Herrn Dr. *H. Lichti, Sandoz AG.*, Basel, mit einem CEC-Massenspektrometer, Modell 21-110 B (Elektronenenergie 70 eV, t = 160 °). Wir danken ihm auch hier bestens für die Aufnahme des Spektrums sowie für die genaue Ausmessung einer grossen Zahl von Spitzen.

[28] Ein weiteres Spektrum wurde von Herrn Dr. *H. Hürzeler, CIBA Aktiengesellschaft*, Basel, aufgenommen. Es unterschied sich nur im unteren Bereich (*m/e* 150) wesentlich vom hier wiedergegebenen. Dieser Bereich ist aber stark von den Aufnahmebedingungen abhängig.

loron (Fig. 16 und 15 bei *Jaeggi et al.* [36]); Metaplexigenin und 12-O-Benzoyl-desacetyl-metaplexigenin (Fig. 24 bei *Schaub et al.* [37a] und Fig. 2 bei *Schaub et al.* [37b]); 12-O-Acetyl-lineolon (*Meister et al.* [38]), sowie Marsdenin und Marsectogenin bei *Saner et al.* [39].



pyranoside (**2**, **4** und **6**). Das Verhalten der höherpolaren Extrakte gegenüber Glucosidasen zeigt, dass in den Wurzeln ausserdem noch die D-Glucoderivate von mindestens 5 dieser Cardenolide anwesend sind. Über den Bau der *Kedde*-negativen Glykoside können noch keine sicheren Aussagen gemacht werden. Vermutlich liegen acylierte Polyhydroxypregnan-Derivate vor, die mit drei verschiedenen 2-Desoxyzuckern (Cymarose, Oleandrose und Digitoxose) verknüpft sind.

Der eine von uns (*D. S.*) dankt dem *Cusanuswerk Bischöfliche Studentenförderung*, Bad Godesberg, Bundesrepublik Deutschland, für ein Stipendium, das ihm die Ausführung dieser Arbeit in Basel erlaubte. Ferner danken wir dem *Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* für einen Beitrag an die Materialkosten und dem BIGA (*Bundesamt für Industrie, Gewerbe und Arbeit*), Bern, für einen Beitrag an die Kosten zur Beschaffung des Pflanzenmaterials.

Experimenteller Teil

1. Allgemeine Angaben. – Die Smp. wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis 200° etwa ± 2°, darüber etwa ± 3°. Substanzproben wurden bei ca. 750 Torr und 20° über $CaCl_2$ bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, unmittelbar vor Verbrennung noch 3 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5 mit Bestimmung von

Gewichtsverlust. – Zur Absorptionschromatographie diente Kieselgel *Merck*, Korngrösse 0,05–0,2 mm, oder Al_2O_3. Ausführung der folgenden Manipulationen und Reaktionen nach früheren Angaben: PC. auf *Whatman*-Papier Nr. 1 [21], DC. auf Linienglas [20]. Sichtbarmachung der Flecke mit *Kedde*-Reagens [5] oder $SbCl_3$ [6] oder 15-proz. *p*-Toluolsulfonsäure in Alkohol und Erhitzen auf 120°, bei 2-Desoxyzuckern auf Papier mit Vanillin-Perchlorsäure [40]. Identifizierung der 2-Desoxyzucker im PC. [41] und durch Papierelektrophorese [42]. – Übliche Aufarbeitung bedeutet: Einengen im Vakuum, Aufnehmen in Chf (od. anderem Lösungsmittel, falls angegeben), Waschen mit W, 2N HCl, 2N Na_2CO_3 und W, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen im Vakuum. Alle Lösungsmittel wurden vor Gebrauch destilliert.

Abkürzungen: AcOH = Eisessig, Ac_2O = Essigsäureanhydrid, Ae = Diäthyläther, An = Aceton, Alk = Äthanol, Be = Benzol, Bu = *n*-Butanol, Chf = Chloroform, Cy = Cyclohexan, DC. = Dünnschichtchromatogramm, Eg = Essigester, F. = Smp. = Schmelzpunkt, Fmd = Formamid, Fr. = Fraktion, Me = Methanol, Mek = Methyläthylketon, ML. = Mutterlauge, n.u. = nicht untersucht, PC. = Papierchromatogramm, Pe = Petroläther, Pn = Pentan, iPr = Isopropanol, Py = Pyridin, Thf = Tetrahydrofuran, To = Toluol, W = Wasser.

2. Extraktion der Wurzeln und Vortrennung der Extrakte. – 560 g trockene Wurzelstücke wurden in einer Schlagmühle zu Pulver vermahlen. Das Mahlgut (524 g) wurde mit 2,5 l CO_2-gesättigtem W gut vermischt und nach Zusatz von 10 ml To 16 Std. bei 25° unter CO_2 verschlossen zur Fermentierung stehengelassen. Dann wurde mit 2,5 l 91-proz. Alk versetzt, 30 Min. auf 50° erwärmt, über Kieselgur (Cellite Nr. 535) abgenutscht und mit 50-proz. Alk nachgewaschen. Das Wurzelpulver wurde danach noch 9mal mit je 1,5 l bis 1 l (abnehmend) von 60–96-proz. Alk bei 60° je 30 Min. extrahiert [4]. Die vereinigten Extrakte wurden im Vakuum bei 45° auf 1,5 l

Tabelle 5. *Chromatographie von 4,63 g Ae-Extrakt an 200 g Kieselgel*

Fr.-Nr.	Elutionsmittel	Eindampfrückstand				Weitere Verarbeitung
	500 ml/Fr.	Menge in mg	*Kedde*-Reakt.	Xanthydrol-Reakt.	Flecke im DC. und PC.	
1– 4	Be	102	– –	– –	X	Aus An-Me 5 mg Krist., Subst. X, Smp. 219–226°
5– 7	Be-Chf-(9:1)	188	– –	– –	– –	n.u.
8–10	Be-Chf-(4:1)	69	– –	– –	– –	n.u.
11–13	Be-Chf-(1:1)	127	– –	– –	– –	n.u.
14	Chf	234	– –	– –	– –	n.u.
15–18	”	561	– –	+(+)	– –	milde saure Hydrolyse (Gr. 1)
19	Chf-Me-(98:2)	114	(+)	++		milde saure Hydrolyse (Gr. 2)
20	”	541	++	++	A	Aus An-Ae 43 mg Krist. A, Smp. 243 bis 253°, ML milde saure
21	”	483	++	++	A	Hydrolyse (Gr. 2)
22–23	”	346	++	++	A, B, B1, B2	milde saure Hydrolyse (Gr. 2)
24	”	58	++	++	B, B1, B2	milde saure Hydrolyse (Gr. 3)
25–28	Chf-Me-(95:5)	768	+	++	B, B1, B2, C	”
29–31	Chf-Me-(9:1)	164	(+)	+(+)	C	”
32–33	Chf-Me-(2:1)	184	– –	+	(C)	”
34	Chf-Me-(1:1)	28	– –	+	– –	”
35–36	Me	85	– –	(+)	– –	n.u.
Total eluiert		4052				

eingeengt, mit 1,5 l Alk versetzt, nach früherer Vorschrift [4] mit frisch gefälltem $Pb(OH)_2$ gereinigt und durch fraktioniertes Ausschütteln aufgetrennt. Die verbliebene, zur Trockne eingedampfte Wasserphase gab mit *Kedde*-Reagens Violettfärbung; Ausbeuten vgl. Tab. 1.

3. Untersuchung des Ae-Extraktes. – 4,63 g des Ae-Extraktes wurden an 200 g SiO_2 chromatographiert. Das Material war in Be nur teilweise löslich. Nur diese Lösung wurde auf die Säule aufgetragen. Die zunächst unlöslichen Reste wurden nach Erwärmen mit neuem Eluiermittel allmählich in Lösung gebracht und in den nächsten Portionen zugegeben. Jede Fr. wurde im Vakuum bei 50° Badtemperatur eingedampft und im DC. (System Eg-Cy-(3:2)) untersucht. Fr. die im DC. gleiche Zusammensetzung zeigten wurden zusammengefasst. Resultat vgl. Tabelle 5.

Die Fr. 20–31 zeigten im PC. (bei Verwendung von 0,5 mg Substanz) die *Kedde*-positiven Flecke A, B und C. A (Uzarigenin), B (Corotoxigenin) und C (Ascleposid) konnten im PC. (Systeme: Be-Chf-(7:5)/Fmd, Chf/Fmd und Be-Thf-(1:1)/Fmd) und im DC. (System: Me-Eg-Cy-(1:2:1)) eindeutig identifiziert werden. B1 und B2 (= Zersetzungsprodukte von B) waren nur in Spuren vorhanden.

3.1. *Milde saure Hydrolyse der drei Gruppen des Ae-Extraktes. – Gruppe 2.* Vorversuch. 413 mg ML der Fr. 20 (Tab. 5) wurden nach früherer Vorschrift [10] mild sauer hydrolysiert und lieferten 210 mg rohes Genin (mit Chf-Ae-(1:4) ausgeschüttelt, Trennung vgl. Tab. 6), sowie 195 mg rohen acetonlöslichen Zuckersirup. Letzterer wurde nur im PC. untersucht. Es konnten darin Cymarose, Oleandrose und Digitoxose nachgewiesen werden.

Tabelle 6. *Chromatographie von 197 mg Geningemisch aus Gruppe 2 (Vorversuch) an 200 g SiO_2 nach Duncan [12] im System Eg-Cy (3:2)*

Fr.-Nr.	Eindampfungsrückstand							
Je 23 ml pro Fr.	roh				Kristalle			Weitere Verarbeitung
	Flecke im DC. und PC.	Menge in mg	*Kedde*-Reaktion	Habitus	Menge in mg	krist. aus Smp.	Flecke im DC. und PC.	
1– 25	– –	29	n.u.	braunes Öl				nicht getrennt
26– 32	K	31	”	weisser Schaum				Endprodukt
33– 38	K, L	12	”	gelber Schaum				n.u.
39– 45	K, M	25	”	gelblicher Schaum	16	An/Ae 129–131°	M = M1 + M2	Endprodukt
46	M(K)	2	”	”				n.u.
47– 56	M = M1 + M2	9	”	”				Endprodukt
57– 65	M, N	5	”	”				n.u.
66– 84	N	15	”	”				Endprodukt
85–106	N, A	7	+	weisser Schaum	4	An/Ae 243–253°	A	Endprodukt ML alkalisch hydrolysiert
107–128	(A)	2	+	gelbliches Harz				n.u.
500 ml Chf-Me-(1:1)	O	(175)[29]	– –	weiss-brauner Schaum				n.u.
Total		137						

[29]) Menge viel zu gross, enthält ca. 80% SiO_2, wurde in der Bilanz daher nicht berücksichtigt.

Hauptversuch. In gleicher Weise wurde der Rest der Gruppe 2 (935 mg) hydrolysiert und gab noch 421 mg rohes Geningemisch (Trennung vgl. Tab. 7). Der Zucker wurde hier nicht isoliert.

Die *Gruppen 1 und 3* wurden in gleicher Weise hydrolysiert (Ausbeuten vgl. Tab. 2). Die erhaltenen Genine wurden nur im DC. untersucht (vgl. Tab. 2) und nicht präparativ getrennt.

3.2. *Präparative Trennung der Genine aus Gruppe 2.* – a) *Aus dem Vorversuch.* Dieses Gemisch liess sich im DC. (vgl. Nr. 2 in Fig. 2 sowie Nr. 5 in Fig. 3) relativ gut trennen. 197 mg (vom Vorversuch, gewonnen aus Fr. 20 von Tab. 5) wurden daher im System Eg-Cy-(3:2) nach *Duncan* [12] chromatographisch in 128 Fr. aufgetrennt. Jede Fr. wurde im DC. (System von Fig. 3) sowie im PC. (in den Systemen Be/Fmd und Chf/Fmd) untersucht. Über das Ergebnis orientiert Tab. 6. In Kristallen wurden ausser wenig A (= Uzarigenin) nur M (= M1 + M2) erhalten. Ferner wurden K und N in chromatographisch reiner Form, aber amorph, gewonnen.

b) *Aus dem Hauptversuch.* In gleicher Weise wurde die verbleibende Hauptmenge der Genine aus Gruppe 2 (421 mg aus Hauptversuch) getrennt (vgl. Tab. 7) und lieferte die gleichen Stoffe.

3.3. *Alkalische Hydrolyse der Genine.* – a) 5 mg Geningemisch aus Gruppe 2 (vom Vorversuch) wurden mit 1 ml 10-proz. KOH in Me 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Erkalten wurde die braune Lösung mit 1,5 ml W versetzt, im Vakuum vom Me befreit und 4mal mit je 10 ml Ae-Chf-(4:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden 2mal mit 0,5 ml W gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde im DC. geprüft (vgl. 4 in Fig. 2 sowie 9 in Fig. 4).

b) 2 mg der Subst. K wurden mit 1 ml 5-proz. KOH in Me 5 Std. unter Rückfluss gekocht. Das Reaktionsprodukt wurde direkt im DC. (Nr. 8 in Fig. 3) sowie im PC. (Fig. 9) geprüft.

c) 2 mg der Subst. N wurden genau gleich behandelt. Das Reaktionsgemisch gab im DC. und im PC. dieselben Flecke wie das Verseifungsprodukt von K.

d) 2 mg krist. Subst. M (= M1 + M2) wurden analog hydrolysiert. Das Rohprodukt gab im DC. (Nr. 13 in Fig. 5) wieder dieselben Hauptflecke wie die Desacylgenine aus K.

Tabelle 7. *Chromatographie von 421 mg Geningemisch an 420 g SiO_2 nach Duncan* [12] *im System Eg-Cy-(3:2)*

Fr.-Nr.	Eindampfungsrückstand							
Je 45 ml pro Fr.	roh				Kristalle			Weitere Verarbeitung
	Flecke im DC. und PC.	Menge in mg	*Kedde*-Reaktion	Habitus	Menge in mg	krist. aus	Flecke im DC. und PC.	
1– 29	n.u.	54	n.u.	braungelbes Öl				nicht getrennt
30– 34	K	36	”	weisser Schaum				Endprodukt
35– 38	K, L	11	”	gelblicher Schaum				n.u.
39– 40	(K), M	6	”	”				n.u.
41– 47	M = M1 + M2	26	”	”	22	Eg-Cy	M = M1 + M2	Endprodukt
48– 60	M, N	14	”	”				n.u.
61– 75	N	25	”	”				Endprodukt
76– 87	N, A	18	+	”	2	An	A	Endprodukt
88–110	A	12	+	”				n.u.
111–126	(A)	5	(+)	braungelbes Harz				n.u.
1 l Eg-Cy-(3:2)	(O)	4	n.u.	”				n.u.
1,1 l Chf-Me-(1:1)	O	(374)[29]	”	bräunlicher Schaum				n.u.
Total		211						

e) *Präparativer Versuch mit Genin K.* 30 mg amorphe, aber chromatographisch reine Subst. K wurden mit 5 ml 5-proz. KOH in Me 5 Std. in N_2-Atmosphäre unter Rückfluss gekocht. Hierauf wurde mit 5 ml W versetzt und im N_2-Strom auf 3 ml eingeengt. Die wässerige, alkalische Lösung wurde mit H_3PO_4 bis zur eben kongosauren Reaktion versetzt (starker Geruch nach Valeriansäure) und 5mal mit je 15 ml Pn-Ae-(2:1) ausgeschüttelt. Die mit W gewaschenen organischen Phasen wurden vereinigt, 2mal mit je 10 ml 2N Sodalösung ausgeschüttelt und mit W gewaschen. Die wässerigen Phasen extrahierte man nochmals mit 10 ml Ae. Die organischen Phasen gaben nach Trocknen und Eindampfen 8,2 mg Rückstand (Pe-Ae-lösliche Neutralteile und Lactone).

Tabelle 8. *Präparative alkalische Hydrolyse von Subst. K sowie eines Gemisches von K + N*

	Substanz K Versuch 3.3e)		Gemisch der Substanzen K + N Versuch 3.3f)		Habitus
	mg	%	mg	%	
Ausgangsmaterial	30,6	100	59	100	weisser Schaum
Chloroform-Auszug, neutral	5	16,3	14	23,7	gelbbraunes Harz
Chloroform-Alkohol-(2:1)-Auszug, neutral	4,6	15	10	16,9	dunkelbraunes festes Material
Pentan-Äther-(2:1)-Auszug, neutral (Lactone usw.)	8,2	26,8	9,5	16,1	hellgelbliches Öl
Säuren (lösl. in Pentan-Äther)	8,6	28,1	25,5[30])	43,2	farblos, flüssig
Spaltstücke total	26,4	86,2	59,0	99,9	

Die vereinigten Sodalösungen und Waschwässer wurden mit H_3PO_4 wieder bis zur eben kongosauren Reaktion versetzt und zweimal mit 10 ml Ae ausgeschüttelt. Die mit W gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge gaben nach vorsichtigem Eindampfen 8,6 mg Rückstand (Pe-Ae-lösliche Säuren), Geruch stark nach Valeriansäure.

Die erste mit Pe-Ae ausgeschüttelte saure wässerige Phase wurde mit K_2CO_3 bis zur alkalischen Reaktion versetzt und 4mal mit je 12 ml Chf ausgeschüttelt. Waschen, Trocknen und Eindampfen gaben 5 mg Chf-lösliche Genine. Die verbliebene wässerige Phase wurde noch 5mal mit je 15 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Diese Auszüge lieferten noch 4,6 mg höherpolare Genine.

Tabelle 9. *Chromatographie von 103 mg Chf-Extrakt an 85 g SiO_2 nach Duncan* [12] *im System Me-Eg-Cy-(1:2:1)*

Fr.-Nr.	Eindampfrückstand				
25 ml pro Fr.	roh				Weitere Verarbeitung
	Flecke im DC. und PC.	Menge in mg	*Kedde*-Reaktion	Habitus	
1– 5	– –	9	– –	braunes Öl	n.u.
6– 7	T	22	– –	gelbbrauner Schaum	"
8	T, (D)	13	(+)	gelber Schaum	"
9	D	11	+ +	weisser Schaum	vereinigt mit ML von Fr. 50–55 von Tab. 10 und 11
10–14	D, E, F	17	+	gelber Schaum	n.u.
15–18	E, F, (E1)	8	+	gelbbrauner Schaum	Trennung an Al_2O_3 (Tab. 12)
19–28	– –	19	(+)	braunes Harz	n.u.
Total		99			

[30]) Nach dem UV.-Spektrum enthält die rohe Säurefraktion ca. 5% Benzoesäure.

Tabelle 10. *Chromatographie von 1,04 g Chf-Extrakt an 720 g SiO_2 nach Duncan* [12] *im System Me-Eg-Cy-(1:2:1)*, Säulendimension: Höhe 85 cm, ⌀ 4,8 cm

Fr.-Nr.	Eindampfrückstand				
22 ml pro Fr. in 45 Min.	roh				Weitere Verarbeitung
	Flecke im DC. und PC.	Menge in mg	*Kedde*-Reaktion	Habitus	
1– 25	– –	57	– –	braunes Öl	n.u.
26– 31	schnelle Flecke	23	– –	gelbbraunes Öl	”
32– 34	”	14	– –	gelbes Harz	”
35– 45	T, ((C))	228	((+))	weissgelber Schaum	”
46– 49	T, D	56[31])	+(+)	gelber Schaum	vereinigt mit Material für Versuch 4.3., s. Tab. 11
50– 55	D	121	++	weisser Schaum	vereinigt mit Fr. 50 bis 55 von Tab. 11
56– 70	2 unbekannte Flecke	64[31])	++	gelbbraunes Harz	vereinigt mit Material für Versuch 4.3., s. Tab. 11
71– 80	”	46	++	”	n.u.
81– 84	E, F, (E1, E2)	17	++	weissgelber Schaum	Trennung an Al_2O_3, Tab. 12
85–109	E, F, (E1, E2)	116	++	”	”
Total		742			

Tabelle 11. *Chromatographie von 918 mg*[31]) *Chf-Extrakt an 720 g SiO_2 nach Duncan* [12] *im System Me-Eg-Cy-(1:2:1)*, Säulendimension wie in Tab. 10

Fr.-Nr.	Eindampfrückstand						
22 ml pro Fr. in 45 Min.	roh				Kristalle		Weitere Verarbeitung
	Flecke im DC. und PC.	Menge in mg	*Kedde*-Reaktion	Habitus	Menge in mg	krist. aus Smp.	
1– 30	– –	59	– –	braungelbes Öl			n.u.
31– 36	schnelle Flecke	32	– –	gelbbraunes Harz			”
37– 43	T, ((C))	157	((+))	braungelber Schaum			”
44– 47	T, D	65	(+)	gelber Schaum			”
48– 49	D, (T)	36	+	”			”
50– 55	D	131	++	weisser Schaum	[127][32])	Me/Ae 241–246°	Endprodukt
56– 65	unbek. Gem. 2 Fl.	61	+	gelbes Öl			n.u.
66– 90	unbek. Gem. 2 Fl., F	101	+	gelber Schaum			Trennung an Al_2O_3, Tab. 12
91–141	E, F, (E1, E2)	80	++	braunes Harz			”
Total		722					

[31]) Die Fr. 46–49 und 56–70 wurden mit dem Rest des Chf-Extraktes vereinigt, der für Versuch 4.3. (vgl. Tab. 11) diente.

[32]) Die chromatographisch reinen, nur Substanz D enthaltenden Fr. aus den Tabellen 10/11 wurden vereinigt und erst dann kristallisiert. Die Mengenangaben stellen das Ergebnis dieser Kristallisation dar.

Die zuletzt verbliebene alkalische wässerige Phase wurde im Vakuum von Chf- und Alk-Resten befreit, mit H_3PO_4 erneut angesäuert und bei 70 Torr im Vakuum zur Trockne eingedampft. Das Destillat (unter guter Kühlung aufgefangen) enthielt nur Spuren an flüchtiger Säure.

f) *Präparativer Versuch mit Gemisch der Genine K + N.* 59 mg eines Gemisches von K mit viel N wurden genau gleich hydrolysiert. Über die Ausbeuten orientiert Tab. 8.

4. Untersuchung des Chf-Extraktes. – Dieses Material wurde in 3 Portionen durch Chromatographie an viel feinem SiO_2 nach *Duncan* [12] getrennt.

4.1. *Vorversuch* (103 mg). Über das Resultat orientiert Tab. 9.

In gleicher Weise wurden noch 2 Portionen getrennt:

4.2. *Hauptversuch* (1,04 g vgl. Tab. 10).

4.3. *Hauptversuch* (0,918 g vgl. Tab. 11).

4.4. *Trennung der E-F-Konzentrate.* Das an E + F angereicherte Material (Fr. 15–18 aus Tab. 9, Fr. 81–109 aus Tab. 10 und Fr. 66–141 aus Tab. 11), zusammen 288 mg, wurden an 10 g Al_2O_3 Akt. II chromatographiert. Über das Ergebnis orientiert Tab. 12.

Tabelle 12. *Chromatographie von 288 mg rohem E + F-Gemisch an 10 g Al_2O_3 Akt. II*

Fr.-Nr.	Elutionsmittel 20 ml/Fr.	Eindampfrückstand Menge in mg	*Kedde*-Reakt.	Flecke im DC. und PC.	Habitus	Weitere Verarbeitung
1– 5	Chf	12	n.u.		braunes Öl	n.u.
6– 9	Chf-Me-(99:1)	3	”		”	”
10–13	Chf-Me-(98:2)	4	–	((D)), F	weisser Schaum	vereinigt, Endprodukt (F)
14–17	Chf-Me-(95:5)	15	+	(D), F, ((E))	”	
18–19	Chf-Me-(9:1)	8	+	F, (E)	weisser Schaum, z.T. glasig	
20	”	3	+(+)	(F), (E)	weisser Schaum	n.u.
21	”	4	++	E	”	vereinigt, Endprodukt (E)
22–24	Chf-Me-(8:2)	33	++	E	”	
25	Chf-Me-(7:3)	9	+	E	grauer Schaum	
26–28	”	18	+	n.u.	braun-graues Harz, z.T. Schaum	n.u.
29–32	Chf-Me-(1:1)	18	+		Öl, braun	”
Total eluiert		127				

Das Material der Fr. 10–19 bestand zur Hauptsache aus der *Kedde*-negativen Substanz F. Versuche zur Kristallisation schlugen fehl.

Das Material der Fr. 21–25 enthielt nur eine *Kedde*-positive Substanz (E = Gofrusid), daneben aber auch noch *Kedde*-negatives Material; es konnten ebenfalls keine Kristalle erhalten werden.

5. Orientierende Untersuchung der Chf-Alk-(2:1)- und -(3:2)-Extrakte durch fermentativen Abbau. – 5.1. *Versuche mit Chf-Alk-(2:1)-Extrakt.* – a) *Mit Pilzamylase* (Rohe Glucosidase aus *Aspergillus oryzae*, bezogen von der *Schweiz. Ferment AG*, Basel). 100 mg Glykosidgemisch wurden in 20 ml W gelöst, mit 200 mg Pilzamylase und 2 Tropfen To versetzt und unter öfterem Schütteln 8 Tage unter CO_2 auf 34° erwärmt. Die Aufarbeitung geschah nach früherer Vorschrift [43]. Durch Kontrolle im PC. wurde festgestellt, dass kein nachweisbarer Abbau stattgefunden hatte.

b) *Mit Schneckenferment.* 30 mg Glykosidgemisch wurden in 5 ml Acetatpuffer [44] mit 30 mg Schneckenferment-Trockenpräparat [45] und 2 Tropfen To versetzt und in CO_2-Atmosphäre unter gelegentlichem Schütteln 8 Tage auf 32° erwärmt. Die Aufarbeitung geschah wie oben. Die Kontrolle im PC. zeigte, dass ein teilweiser Abbau stattgefunden hatte.

c) *Mit «Cellulase»*[17]. 60 mg Glykosidgemisch wurden in 5 ml W gelöst, mit 180 mg Fermentpräparat und 0,005 ml AcOH versetzt, im Vakuum eingeschmolzen, durch Schütteln möglichst homogenisiert und 4 Tage bei 35° stehengelassen. Aufarbeitung wie oben und fraktioniertes Ausschütteln mit Chf sowie Chf-Alk-Gemischen gab die in Tab. 13 genannten Ausbeuten. Die Kontrolle im PC. (Fig. 10) zeigte weitgehenden Abbau.

5.2. *Versuch mit Chf-Alk-(3:2)-Extrakt.* 30 mg von diesem hochpolaren Material wurden wie oben mit «Cellulase» behandelt und gaben die in Tab. 13 genannten Ausbeuten. Auch hier war nach PC. ein starker Abbau festzustellen.

Tabelle 13. *Ausbeuten an rohen Extrakten verschiedener Polarität beim fermentativen Abbau der hochpolaren Glykosidgemische (Chf-Alk-(2:1)- und -(3:2)-Extrakte) mit «Cellulase» (= β-Glucosidase)*

Art des Materials	Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt			Chloroform-Alkohol-(3:2)-Extrakt		
	Menge in mg	Menge in %	Flecke im PC.	Menge in mg	Menge in %	Flecke im PC.
Eingesetztes Material	60	100		30	100	
Chloroformauszug	24	40	A, C, D, E, ((G))	10	33,3	(C), D, (E), ((G))
Chf-Alk-(2:1)-Auszug	28	46,7	nicht geprüft	7	23,3	G
Chf-Alk-(3:2)-Auszug	6	10	"	2	6,7	– –
Total	58[33])	96,7		19[33])[34])	63,3	

Weitere Versuche wurden mit diesen Extrakten nicht durchgeführt.

6. Beschreibung der in Kristallen isolierten Stoffe. – *Substanz A = Uzarigenin.* Aus Me-Ae farblose Platten, Smp. 243–253°; Xanthydrolprobe negativ, *Kedde*-Reaktion positiv. Nach Mischprobe, IR.-Spektrum, Laufstrecke im DC. (vgl. Fig. 4) und PC., und Färbungen mit 84-proz. H_2SO_4 identisch mit authentischem Uzarigenin.

Substanz D = Coroglaucigenin. Aus Me feine farblose Nadeln, Smp. 210–215° oder rechteckige Plättchen, Smp. 241–246°; aus Me-An rechteckige Tafeln, Smp. 244–250°; $[\alpha]_D^{24} = +21{,}6° \pm 2°$ ($c = 1{,}13$ in Me). *Kedde*-Reaktion positiv, Xanthydrolprobe negativ. Die Laufstrecken im DC. (vgl. Fig. 7) und PC (vgl. Fig. 10), sowie die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 und 96-proz. H_2SO_4 waren gleich wie bei authentischem Material. Der Misch-Smp. zeigte keine Depression. Trocknung zur Analyse gab 2,71% Gewichtsverlust.

$C_{23}H_{34}O_5$ (390,5) Ber. C 70,71 H 8,79% Gef. C 71,03 H 8,86%

Di-O-acetyl-coroglaucigenin. 28,6 mg Substanz D vom Smp. 241–246° wurden in 1 ml abs. Py und 0,8 ml Ac_2O gelöst und 52 Std. bei 20° gehalten. Die mit 2 ml W versetzte Lösung gab nach üblicher Aufarbeitung 33 mg farblosen Schaum. Aus An-Ae 27 mg farblose Kristalle vom Smp. 214 bis 218°. Nach Misch-Smp., PC. (System Chf/Fmd) und DC. (System Eg) sowie IR.-Spektrum (fest in KBr) identisch mit authentischem Material.

Substanz M. Nach Umkristallisation aus An-Ae farblose Nadeln, z.T. Rechtecke, Smp. 129 bis 131°, Spuren kleiner Strukturen schmelzen bei 154°; $[\alpha]_D = +11{,}6°$ ($c = 0{,}343$ in An)[21]). *Kedde*-Reaktion und Xanthydrolprobe negativ, Färbung mit $SbCl_3$ hellziegelrot, Färbung mit *p*-Toluolsulfonsäure gelb. Über Laufstrecken in DC. und PC. geben die Figuren 2, 3, 5 und 8 Auskunft. Massenspektrum vgl. Fig. 12, IR.-Spektrum Fig. 11. Das UV.-Spektrum in Alk ($\log\varepsilon$-Werte auf $C_{28}H_{38}O_7$, $M = 486$, berechnet) zeigt neben der Endabsorption bei 196 nm ($\log\varepsilon = 4{,}552$) Maxima bei 230,5 (4,121), 268 (2,934), 273,5 (2,972) und 281 nm ($\log\varepsilon = 2{,}882$).

Hydrolyse von Substanz M. 5,2 mg Substanz M (2. Qualität vom Smp. 145–190°) wurden in 1,5 ml Me und 0,5 ml gesättigter wässeriger $Ba(OH)_2$-Lösung $1^1/_2$ Std. unter Rückfluss gekocht, heiss mit CO_2 neutralisiert und heiss filtriert. Das Filtrat wurde bei 0° mit 2N H_2SO_4 kongosauer gestellt und mit Ae ausgeschüttelt. Dieser Auszug gab 4 mg rohe Säuren (wenig Kristalle, Geruch

[33]) Ergebnis wegen Anwesenheit nicht ganz abgetrennter Fermentreste verfälscht.
[34]) Verluste beim Öffnen der Ampulle.

nach Valerian- oder Buttersäure). Die wässerige Lösung wurde mit $BaCO_3$ heiss neutralisiert, filtriert und im Vakuum eingedampft. Rückstand gab 1,1 mg Me-lösliches Neutralprodukt. Dieses zeigte auf der Dünnschichtplatte (Kieselgel H. *Merck*) mit Chf-iPr-(9:1) eine Laufstrecke von 72 mm. Die Front lag bei 175 mm. Auf derselben Platte zeigten Marsectohexol (Q) 24 mm, Drevogenin D [34] 16 mm und Sarcostin 30 mm. Das Produkt war somit von diesen 3 Stoffen verschieden.

Substanz X = 3-O-Acetyl-β-amyrin. Zur Reinigung wurde im Molekularkolben bei 0,01 Torr und 130–170° Badtemperatur sublimiert. Aus An oder Me Nadeln vom Smp. 219–226°. Im DC. an SiO_2-$AgNO_3$ [46] (Fliessmittel Be) gleiche Laufstrecke wie 3-O-Acetyl-β-amyrin und deutlich verschieden von 3-O-Acetyl-lupeol. Weiter identifiziert nach IR., Misch-Smp. und Gas-Chromatogramm.

Die Analyse wurde von Herrn *E. Thommen* im Mikrolabor unseres Institutes ausgeführt.

LITERATURVERZEICHNIS

[1] *R. Elber, Ek. Weiss & T. Reichstein,* Helv. *52,* 2583 (1969).
[2] *A. A. Bullock,* Notes on African Asclepiadaceae I, Kew Bull. *6,* 405 (1953).
[3] *E. Abisch & T. Reichstein,* Helv. *45,* 2090 (1962).
[4] *P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein,* Helv. *34,* 1740 (1951); *J. v. Euw, H. Hess, P. Speiser & T. Reichstein,* Helv. *34,* 1821 (1951).
[5] *D. L. Kedde.* Pharmac. Weekbl. *82,* 741 (1947); vgl. *I. E. Bush & D. A. H. Taylor,* Biochem. J. *52,* 643 (1952); *M. L. Lewbart, W. Wehrli & T. Reichstein,* Helv. *46,* 505 (1963).
[6] *R. Neher & A. Wettstein,* Helv. *34,* 2278 (1951); *D. Lawday,* Nature *170,* 415 (1952).
[7] *P. Bellet,* Ann. pharmac. franç. *8,* 471 (1950); *M. Pesez, ibid. 10,* 104 (1952).
[8] *T. Reichstein,* Naturwiss. *54,* 53 (1967).
[9] *Elsevier's Encyclopaedia of Organic Chemistry,* Vol. *14,* 526; Vol. *14,* Suppl., 939 S, Elsevier, New York and Amsterdam 1940 & 1952.
[10] *S. Rangaswami & T. Reichstein,* Helv. *32,* 939 (1949).
[11] *H. Allgeier,* Helv. *51,* 311 (1968).
[12] *G. R. Duncan,* J. Chromatogr. *8,* 37 (1962).
[13] *H. Mitsuhashi & T. Nomura,* Steroids *3,* 271 (1964); *H. Mitsuhashi, T. Nomura & M. Fukuoka, ibid. 4,* 483 (1964).
[14] *J. Pehičic,* Arch. Pharmaz. *299,* 1007 (1966).
[15] *J. M. do Nascimento, Ch. Tamm, Herb. Jäger & T. Reichstein,* Helv. *47,* 1775 (1964).
[16] *A. Stoll, A. Pereira & J. Renz,* Helv. *32,* 293 (1949).
[17] *A. Hunger & T. Reichstein,* Helv. *35,* 1073 (1952).
[18] *M. Keller & T. Reichstein,* Helv. *32,* 1607 (1949).
[19] *A. Hunger & T. Reichstein,* Helv. *35,* 429 (1952).
[20] *A. Gamp, P. Studer, H. Linde & K. Meyer,* Experientia *18,* 292 (1962).
[21] *O. Schindler & T. Reichstein,* Helv. *34,* 108 (1951); *H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein,* Helv. *36,* 357 (1953); *F. Kaiser,* Chem. Ber. *88,* 556 (1955); *B. Fechtig, J. v. Euw, O. Schindler & T. Reichstein,* Helv. *43,* 1570 (1960).
[22] *K. Stöckel,* Diss. Basel 1968; *K. Stöckel, W. Stöcklin & T. Reichstein,* Helv. *52,* 1175, 1403, 1429 (1969).
[23] *R. K. Elber,* Diss., Basel 1965.
[24] *L. Ruzicka & Pl. A. Plattner,* U.S.-Pat. 2555704 vom 5.6.1951; Chem. Abstr. *46,* 148 (1952); *Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, H. Heusser & E. Angliker,* Helv. *30,* 385 (1947).
[25] *H. Mitsuhashi & T. Nomura,* Chem. pharmac. Bull. (Japan) *11,* 1333 (1965); *10,* 811 (1962); *13,* 274 (1965); *H. Mitsuhashi, T. Nomura & M. Hirano, ibid. 14,* 717 (1966); *M. Fukuoko & H. Mitsuhashi, ibid. 15,* 2007 (1967); *16,* 553 (1968); *Y. Shimizu & H. Mitsuhashi,* Tetrahedron *24,* 4443 (1968).
[26] *J. W. Cornforth & J. Earl,* J. chem. Soc. *1939,* 737; *1940,* 1443.
[27] *K. A. Jaeggi, Ek. Weiss & T. Reichstein,* Helv. *46,* 694 (1963).
[28] *E. Abisch, Ch. Tamm & T. Reichstein,* Helv. *42,* 1014 (1959).
[29] *R. Tschesche, G. Brügmann, R. W. Marquardt & H. Machleidt,* Liebigs Ann. Chem. *648,* 185 (1961); *R. Tschesche, G. Brügmann & G. Snatzke,* Tetrahedron Letters *9,* 473 (1964).

[30] *H. Mitsuhashi, Y. Shimizu, T. Nomura, T. Yamada & E. Yamada,* Chem. pharmac. Bull. (Japan) *11,* 1198 (1963); vgl. auch [15].
[31] *B. Kapur, H. Allgeier & T. Reichstein,* Helv. *50,* 2147, 2171 (1967).
[32] *M. v. Ardenne, R. Tümmler, Ek. Weiss & T. Reichstein,* Helv. *47,* 1032 (1964).
[33] *R. Tschesche, P. Welzel & H.-W. Fehlhaber,* Tetrahedron *21,* 1797 (1965).
[34] *H. H. Sauer, Ek. Weiss & T. Reichstein,* Helv. *48,* 857 (1965).
[35] *L. Sawlewicz, Ek. Weiss & T. Reichstein,* Helv. *50,* 530 (1967).
[36] *K. A. Jaeggi, Ek. Weiss, W. Wehrli & T. Reichstein,* Helv. *50,* 1201 (1967).
[37] a) *F. Schaub, H. Kaufmann, W. Stöcklin & T. Reichstein,* Helv. *51,* 738 (1968); b) *F. Schaub, W. Stöcklin & T. Reichstein,* Helv. *51,* 767 (1968).
[38] *L. Meister, W. Stöcklin & T. Reichstein,* Helv., im Druck.
[39] *A. Saner, W. Stöcklin & T. Reichstein,* Helv., im Druck.
[40] *A. P. McLennan, H. M. Randall & D. W. Smith,* Analyt. Chemistry *31,* 2020 (1959).
[41] *O. Renkonen & O. Schindler,* Helv. *39,* 1490 (1956).
[42] *U. Eppenberger, H. Kaufmann, W. Stöcklin & T. Reichstein,* Helv. *49,* 1492 (1966); *H. Kaufmann, P. Mühlradt & T. Reichstein,* Helv. *50,* 2287 (1967).
[43] *T. Golab, H. Jäger & T. Reichstein,* Helv. *43,* 2035 (1960), bes. p. 2056.
[44] *A. R. Manzetti & T. Reichstein,* Helv. *47,* 2320 (1964).
[45] *H. Huber, F. Blindenbacher, K. Mohr, P. Speiser & T. Reichstein,* Helv. *34,* 46 (1951) bes. p. 68–69.
[46] *J. W. Copius-Peereboom & H. W. Beekes,* J. Chromatogr. *17,* 99 (1965), u. frühere Lit. daselbst.

Curriculum vitae

Am 20. April 1935 wurde ich, JOACHIM DIETER SIERP, in Berlin als Sohn des Regierungsassessors Dr. iur. Kurt Sierp und seiner Gattin Ursula, geb. Ankermann, geboren.

Nach 5 Jahren Volksschule in Berlin und Regensburg besuchte ich von 1946–1956 das humanistische Musikgymnasium der «Regensburger Domspatzen», wo ich im Sommer 1956 die Reifeprüfung bestand.

Nach einem Praktikum in der Papierindustrie immatrikulierte ich mich im Sommersemester 1957 an der Universität Basel in der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät mit Hauptfach Chemie.

Das Vorexamen in anorganischer Chemie legte ich 1959 bei Herrn Prof. Dr. H. Erlenmeyer† ab, das Vorexamen in organischer Chemie im Herbst 1960 bei Herrn Prof. Dr. M. Brenner und im Frühjahr 1962 bei Herrn Prof. Dr. C. Grob. Das Vorexamen in Farbenchemie bei Herrn Prof. Dr. R. Wizinger bestand ich im Frühjahr 1962, dasjenige über Reaktionsmechanismen bei Herrn Prof. Dr. C. Grob im Frühjahr 1967.

Nebenfachexamina legte ich ab in Mineralogie bei Herrn Prof. Dr. E. Wenk (1962), Physikalischer Chemie bei Herrn Prof. Dr. W. Kuhn† (1963) und in Nationalökonomie bei Herrn Prof. Dr. E. Salin (1965).

Die vorliegende Dissertation begann ich unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. T. Reichstein im Herbst 1963 und beendete sie im Herbst 1966.

Im Verlaufe meines Studiums besuchte ich die Vorlesungen und Kurse der folgenden Herren Professoren und Dozenten: P. Bearth, G. Bombach, M. Brenner, P. Buchner, H. Dahn, P. Diehl, H. Erlenmeyer†, S. Fallab, J. Gantner, C. Grob, P. Huber, K. Jaspers, W. Kuhn†, A. Marxer, E. Miescher, E. Mohr, S. Morenz, W. Muschg†, A. Portmann, T. Reichstein, H. Reinhardt, A. Reinle, E. Salin, Ch. Tamm, E. Wenk, R. Wizinger, H. W. Zimmermann.